

Quantitative Untersuchungen über den
Peroxydasegehalt des menschlichen Serums
unter physiologischen
und pathologischen Bedingungen

von

OTFRIED STRUBELT

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Erlangen
Direktor: Professor Dr. med. Norbert Henning

QUANTITATIVE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DEN PEROXYDASEGEGEHALT
DES MENSCHLICHEN SERUMS UNTER PHYSIOLOGISCHEN UND
PATHOLOGISCHEN BEDINGUNGEN

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Friedrich-Alexander-Universität
zu
Erlangen



Vorgelegt von
O t f r i e d S t r u b e l t
aus
Königsberg in Preußen

Referent: Professor Dr. med. Norbert H e n n i n g

Dekan: Professor Dr. med. Fritz H e i m

Tag der mündlichen Prüfung: 21.1.1959

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. Geschichtlicher Teil und Fragestellung	5
II. Methodik	9
1. Die Benzidinmethode	9
2. Die Pyrogallolmethode	12
III. Klinischer Teil	16
1. Peroxydase im Normalserum	16
2. Orientierende Verlaufsbeobachtungen an 46 Patienten	18
3. Über den Anstieg der Serumperoxydase bei Fieber	23
4. Über das Verhalten der Serumperoxydase nach Bluttransfusionen	24
5. Die Serumperoxydaseaktivität im Knochenmark	26
6. Die Serumperoxydase bei Störungen der Myelopoese	26
7. Untersuchungen über die mögliche Beein- flussung der Serumperoxydase durch Röntgenstrahlen	29
a) in vitro - Versuche	30
b) Klinische Verlaufsbeobachtungen	34
IV. Diskussion	37
V. Zusammenfassung	43
VI. Literatur	45



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548806_0102

I. Geschichtlicher Teil und Fragestellung.

Vor mehr als hundert Jahren entdeckte SCHOENBEIN, daß pflanzliche und tierische Substanzen in Gegenwart von Wasserstoffsuperoxyd Guajak blau färben können. LINOSSIER bezeichnete als erster das hierbei wirksame Prinzip als "Peroxydase". Seither haben sich zahlreiche Autoren mit diesem Ferment beschäftigt. Wir wissen heute, daß Peroxydasen fast in allen höheren Pflanzen enthalten sind, dagegen im Tierreich vergleichsweise selten vorkommen (THEORELL).

Die ältesten Angaben über das Vorkommen von Peroxydase im tierischen Organismus stammen von SCHOENBEIN, der zuerst die Guajakbläuung durch Speichel- und Nasenschleim in Gegenwart von Wasserstoffsuperoxyd beobachtete. KLEBS zeigte 1868, daß Guajaktinktur auch durch Eiter blau gefärbt wird. Eine thermolabile Peroxydase konnten v.CZYLHARZ und v.FÜRTH mit der Jodidmethode in Knochenmark, Milz, Lymphknoten, Leukozyten und Sperma mit Sicherheit nachweisen.

Die Angaben von BATTELLI und STERN aus dem Jahre 1908, nach denen sich Peroxydase in allen tierischen Organen befindet, erscheinen im Lichte neuerer Untersuchungen zweifelhaft.

FISCHEL und KREIBICH konnten Anfang des Jahrhunderts in umfangreichen mikrochemischen Untersuchungen mit der Benzidinreaktion eine thermolabile Peroxydase im Plasma der eosinophilen und neutrophilen Leukozyten feststellen, nicht dagegen bei basophilen Leukozyten und Lymphozyten.

JUSCHTSCHENKO wies eine Peroxydase in der Schilddrüse verschiedener Tiere nach. SCHEUNERT, GRIMMER und ANDRYEWSKI fanden Extrakte von Sublingualdrüsen bei allen Tieren sehr reich an Peroxydase.

Über das Vorkommen einer echten thermolabilen Peroxydase im tierischen Blut berichteten 1921 BACH und ZUBKOWA. NEUMANN reicherte 1924 die eosinophile Granulasubstanz der weißen Blutkörperchen von Pferden an und erhielt ein graugrünes Substrat, das sich durch intensivste Peroxydasereaktion auszeichnete. Wenige Jahre später konnte NIKOLAJEW peroxydatisch wirksame Leukozytenextrakte gewinnen und ihre Hitze-labilität nachweisen.

In jüngerer Zeit beschäftigten sich BANCROFT und ELLIOT mit dem Vorkommen von Peroxydasen in tierischen Geweben. Sie stellten hämoglobinfreie Extrakte verschiedener Gewebe her und testeten ihre peroxydatische Wirksamkeit. Sie erhielten bei Milz und Lunge positive, bei Leber und Nieren schwach positive und bei allen anderen Geweben negative Reaktionen. Über die peroxydatische Wirksamkeit des Nebennierenmarkes berichtete 1942 HUSZAK.

SATO fand, daß es bei klinischen und experimentellen pathologischen Veränderungen am Boden des III. Ventrikels zu einem völligen Schwund der Peroxydasereaktion in Blut und Knochenmark bei erhaltener Oxydasereaktion kommt (striäres Blutsyndrom). KURIBAYASHI sah nach Entfernung der Hirnrinde eine verstärkte Peroxydasereaktion der Granulozyten, die er mit der Enthemmung eines "Peroxydasezentrums" im Zwischenhirn erklärte.

Aus den erwähnten Untersuchungen geht hervor, daß von den verschiedenen Zellarten des menschlichen und tierischen Organismus nur die granulierten Leukozyten peroxydasehaltig gefunden wurden, und daß bei der Untersuchung der verschiedenen Gewebe besonders solche positiv waren, die durch ihre

Struktur und Funktion als leukozytenreich zu betrachten sind (Milz, Lunge, Knochenmark, Blut). HENNING, DEMLING und HÄRTLEIN konnten schließlich an Hand ausgedehnter histochemischer Untersuchungen sämtlicher tierischer und menschlicher Gewebe und intra vitam gewonnener Punktionspräparate den Beweis erbringen, daß Peroxydase nur in den granulierten Leukozyten enthalten ist, in ganz geringen Mengen noch in den Monozyten. Die peroxydatische Wirksamkeit menschlichen und tierischen Materials ist also auf die Leukozyten- oder Myeloperoxydase zurückzuführen.

Die Myeloperoxydase konnte 1941 von AGNER in reiner oder nahezu reiner Form dargestellt werden. Die prosthetische Gruppe des Ferments ist ein Hämin. Die Myeloperoxydase unterscheidet sich von den anderen (pflanzlichen) Peroxydasen dadurch, daß ihre prosthetische Gruppe mittels Aceton-Salzsäure nicht abgespalten werden kann.

Auch die Peroxydase des menschlichen Serums entstammt den Granulozyten. Über ihr Vorkommen wurde erstmals von KWASNIEWSKI und HENNING berichtet. Die Autoren benutzten Benzidin und Wasserstoffsuperoxyd als Indikator und konnten positive Reaktionen vor allem bei Leukämien und Infektleukozytosen beobachten, Spuren von Peroxydase auch im Normalserum. BROCC-ROUSSEAU stellte 1931 das Fehlen von Peroxydase im normalen Serum fest. Weitere Untersuchungen anderer Autoren bestätigten jedoch die Angaben von KWASNIEWSKI und HENNING.

MÖLLERSTRÖM verglich in einer Arbeit aus dem Jahre 1942 das Verhalten der Serumperoxydase mit Temperatur, Leukozytenzahl und Blutsenkungsreaktion bei Fieberzuständen. Er konnte

eine Peroxydasesteigerung entsprechend dem auf die Zunahme folgenden Rückgang der weißen Blutkörperchen feststellen. HENNING, DEMLING und HÄRTLEIN wiesen in einer umfangreichen Arbeit aus dem Jahre 1949 die Serumperoxydase qualitativ mit der Methode der Benzidindehydrierung nach. Sie sahen eine Abhängigkeit des Serumfermentspiegels von Temperatur, Blutsenkungsreaktion, Leukozytenzahl und Granulozytenzerfall und bezeichneten die Serumperoxydase als einen Gradmesser des Granulozytenzerfalls. WITTE untersuchte mit der gleichen Methodik das Serum von Tuberkulosekranken und erhielt in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle eine positive Reaktion. Nach Zusatz von Tuberkulin zu den Blutproben in vitro verstärkte sich die Intensität der Reaktion. KOCH und MECHOW führten halbquantitative Untersuchungen mit der Benzidinmethode durch und sahen einen Anstieg der Serumperoxydase sowie eine Vermehrung der leukozytären Abbauszellen nach Röntgenbestrahlungen und Gaben von Hypophysenvorderlappenhormon. Die Höhe des Serumperoxydasespiegels erschien aber nicht abhängig von der Leukozytenzahl; es wurden hohe Peroxydasewerte auch bei normalen oder sogar herabgesetzten Leukozytenzahlen nachgewiesen, umgekehrt auch bei anhaltenden Leukozytosen eine positive Reaktion vermißt.

BÜNTE und DEMLING entwickelten erstmals eine quantitative Methode zur Bestimmung der Serumperoxydaseaktivität auf der Grundlage der klassischen Peroxydasereaktion mit Pyrogallol.

Zweck dieser Arbeit war es, an Hand einer geeigneten Untersuchungsmethode den Peroxydasegehalt des menschlichen Serums unter physiologischen und pathologischen Bedingungen

quantitativ zu bestimmen, um die Bedeutung dieses Fermentes näher kennenzulernen. Insbesondere interessierte die Frage, ob sich der Serumferment Spiegel bei Röntgenbestrahlungen als Folge einer Schädigung der Granulozyten verändert.

II. Methodik.

Von den über 30 Stoffen und Stoffgruppen, die JAYLE als mögliche Akzeptoren zur Bestimmung der Peroxydaseaktivität angibt, sind für den Nachweis der Serumperoxydase bisher zwei verwendet worden: Benzidin und Pyrogallol.

1. Die Benzidinmethode.

Die von HENNING, DEMLING und HÄRTLEIN entwickelte Benzidinmethode beruht auf der Oxydation des Benzidins zum rotbraunen Purpurobenzidin bei Anwesenheit von Wasserstoffsuperoxyd und Peroxydasen.

Methode: Ein Gemisch aus gleichen Teilen Serum und physiologischer Kochsalzlösung wird mit der gleichen Menge des Reagens (1. Heißgesättigte, nach Abkühlen filtrierte Benzidinlösung, 2. 3%iges Wasserstoffsuperoxyd, davon 3 Tropfen auf 100 ml Benzidinlösung) versetzt, durchgeschüttelt und für 24 Stunden in den Brutschrank bei 37° gebracht. In negativen Fällen bleibt das Gemisch unverändert, bei positivem Ausfall zeigt sich eine verschieden starke rotbraune Färbung. Man beurteilt die Reaktion halbquantitativ nach der Farbtintensität mit den Bezeichnungen einfach, zweifach und dreifach positiv.

Es ergab sich die Frage, ob man diese Methode quantitativ

auswerten kann. Zu diesem Zweck bestimmten wir mit dem Spectralphotometer das Absorptionsspektrum des Purpurobenzidins. Wir fanden ein breites Absorptionsmaximum zwischen 400 und 450 m μ . Wir maßen deshalb in der Folge den Ausfall der Reaktion an der Farbintensität, die wir im Kolorimeter Elko II mit dem Filter S 42 E 52 bestimmten.

Zur Untersuchung der Spezifität der Reaktion wurde der Leerwert so angesetzt, daß zu der 50-fachen Serumverdünnung der gleiche Teil einer Benzidinlösung ohne Wasserstoffsuperoxyd gegeben wurde. Dieser Leerwert wurde zusammen mit dem Hauptversuch bei 37° 24 Stunden inkubiert. Mit dieser Methodik erhielten wir in fast allen Fällen einen positiven Ausfall auch des Leerversuches, der den des eigentlichen Hauptversuches häufig erreichte (Tabelle 1).

Tabelle 1.

Ergebnis des Hauptversuchs (Serum, Benzidin, Wasserstoffsuperoxyd) und des modifizierten Leerversuchs (Serum, Benzidin) der Benzidinmethode bei 5 Seren.

Hauptversuch	modifizierter Leerwert
0,260	0,148
0,696	0,696
0,580	0,580
0,280	0,270
0,585	0,540

Mit der Benzidinmethode werden also nicht nur peroxydatisch, sondern auch oxydatisch wirkende Substanzen nachgewiesen. Ob dabei eine im Serum eventuell enthaltene Oxydase wirksam ist, oder ob die Serumperoxydase gegenüber Benzidin auch

eine oxydatische Aktivität entfalten kann, wie es für die Meerrettich- und die Myeloperoxydase gegenüber Dioxymaleinsäure als Substrat nachgewiesen wurde (THEORELL und SWEDIN), ließ sich mit unseren Mitteln nicht klären.

Wir versuchten, die oxydatische Komponente aus der Reaktion auszuschalten, indem wir den Sauerstoff aus dem Reaktionsgemisch entfernten. Das Überschichten mit Paraffin genügte dabei nicht; auch in einer Stickstoffatmosphäre blieb der Leerwert positiv, da der im Reaktionsgemisch absorbierte Sauerstoff für die Wirksamkeit der oxydatischen Komponente offenbar ausreichte. Wir ließen deshalb durch das Reaktionsgemisch 30 Sekunden lang Stickstoff fluten und die Reaktion dann in einer Stickstoffatmosphäre ablaufen. Hierdurch wurde es möglich, die oxydatische Komponente völlig zu eliminieren, der Benzidinleerversuch blieb immer negativ. Da bei dem Durchfluten mit Stickstoff das im Reaktionsgemisch enthaltene Wasserstoffsuperoxyd weitgehend zerstört wurde, gaben wir Wasserstoffsuperoxyd in entsprechender Menge erst nach der Durchflutung dem Gemisch zu.

Unsere Methodik zur Bestimmung der Serumperoxydaseaktivität mit der Benzidinmethode war also folgende: Zu 1,5 ml zellfreiem, nicht hämolytischem Serum werden 1,5 ml physiologische Kochsalzlösung und 3,0 ml heißgesättigte, abgekühlte Benzidinlösung gegeben. Durch das in einem Reagensglas befindliche Reaktionsgemisch läßt man 30 Sekunden Stickstoff perlen, anschließend wird ein Tropfen einer aus 30%igem Perhydrol MERCK frisch angesetzten 0,3%igen Wasserstoffsuperoxydlösung zugegeben, das Reaktionsgemisch mit Stickstoff überflutet und das Reagensglas mit einem Gummipfropfen

schnell luftdicht verschlossen. Das Gemisch wird sodann durchgeschüttelt. Der Leerwert wird in gleicher Weise angesetzt, jedoch ohne Wasserstoffsuperoxyd. Nach 24-stündiger Inkubation im Brutschrank bei 37° erfolgt die Ablesung im Elko-Kolorimeter unter Verwendung des Blaufilters S 42 E 52 in einer Küvette von 10 mm Schichtdicke, wobei das Reaktionsgemisch gegen den Leerversuch gemessen wird.

Wir untersuchten mit dieser Methodik das Serum von 60 Blutspendern und konnten in allen Fällen eine positive Reaktion feststellen. Der Mittelwert lag bei einer Extinktion von 0,242.

Bei der Überprüfung der Fehlergrenzen der Methodik mußten wir feststellen, daß die Genauigkeit dieser Reaktion für eine quantitative Auswertung unzureichend ist. Hauptfehlerquelle ist die Stickstoffdurchflutung, bei der immer unbestimmbare Mengen des Reaktionsgemisches verloren gehen, so daß die Konzentration des Wasserstoffsuperoxyds, mit der nach unseren Beobachtungen der Ausfall der Reaktion ansteigt, großen Schwankungen unterworfen ist. Außerdem trägt die lange Dauer der Reaktion zu ihrer Ungenauigkeit bei. Da diese Fehlerquellen nicht abzustellen sind, mußten wir unsere Bemühungen um die quantitative Auswertung der Benzidinmethode aufgeben.

2. Die Pyrogallolmethode.

BÜNTE und DEMLING geben eine Methode zur quantitativen Bestimmung der Serumperoxydaseaktivität an, die auf der klassischen Peroxydasereaktion mit Pyrogallol (STRUVE, BACH und CHODAT) aufbaut. Das Prinzip der Reaktion ist die Oxydation des Pyrogallols zum roten Purpurogallin durch die

Serumperoxydase in Gegenwart von Wasserstoffsuperoxyd.

Methode: Zu 0,5 ml zellfreiem, nicht hämolytischem Serum (30 Min. bei 3000 U/Min. zentrifugiert) werden 0,5 ml physiologische Kochsalzlösung, 1,0 ml Pufferlösung (Zitronensäure-Natriumbiphosphatpuffer), 1,0 ml Wasserstoffsuperoxydlösung (0,1%ig) und 1,0 ml Pyrogallollösung (50 mg%ig) gegeben. Dieses Reaktionsgemisch beläßt man genau 15 Minuten bei 20° und unterbricht dann die Reaktion mit 1,0 ml 1/n Schwefelsäure. Der Leerwert wird in gleicher Weise angesetzt, die Schwefelsäure jedoch sofort zugegeben. Zur Bestimmung der Extinktion wird der Hauptversuch gegen den Leerwert in einem Kolorimeter unter Verwendung eines Blaufilters S 42 bei einer Schichtdicke von 1 mm gemessen.

Wir untersuchten zunächst die Frage, ob mit dieser Methode außer der Serumperoxydase auch im Serum enthaltene oxydatisch wirkende Substanzen nachgewiesen werden. Wir setzten deshalb den Leerversuch wieder so an, daß wir im Unterschied zum Hauptversuch nur die Wasserstoffsuperoxydlösung wegließen, die wir durch physiologische Kochsalzlösung ersetzten, im übrigen aber den Leerwert genauso behandelten wie den Hauptversuch. Die Ablesung unseres Hauptversuches und unseres Leerwertes erfolgte gegen den nach der Vorschrift von BÜNTE und DEMLING angesetzten Leerwert. Die Ergebnisse der Untersuchung 5 verschiedener Seren sind in Tabelle 2 aufgeführt. Es zeigt sich, daß ohne Rücksicht auf den Ausfall des Hauptversuchs der ohne Wasserstoffsuperoxyd angesetzte Leerversuch mit einer mittleren Extinktion von 0,071 positiv wird. Da man einen genauso großen positiven Ausfall auch erhält, wenn man Pyrogallollösung entsprechender Konzentration allein

Tabelle 2.

Ergebnis des Hauptversuchs (Serum, Puffer, Pyrogallol, Wasserstoffsuperoxyd, Schwefelsäure) und des modifizierten Leerversuchs (Serum, Puffer, Pyrogallol, physiologische Kochsalzlösung, Schwefelsäure) der Pyrogallolmethode bei 5 Seren.

Hauptversuch	modifizierter Leerwert
0,310	0,068
0,354	0,072
0,428	0,075
0,435	0,070
0,590	0,074

(ohne Serum und Wasserstoffsuperoxyd) 15 Minuten lang inkubiert, beruht er nicht auf der oxydatischen Wirksamkeit des Serums, sondern auf der Eigenoxydation des Pyrogallols durch den Luftsauerstoff. Diese Eigenoxydation ist in allen Fällen die gleiche und kann deshalb unberücksichtigt bleiben. Mit der Pyrogallolmethode wird also nur die Peroxydase, dagegen keine oxydatisch wirksame Substanz des menschlichen Serums nachgewiesen.

Ein weiterer Vorteil gegenüber der Benzidinmethode ist die Kürze der Reaktionszeit. Die von BÜNTE und DEMMLING angegebene Fehlergrenze von 5% wird auch bei routinemäßiger Anwendung der Methode nicht überschritten. Um die Genauigkeit noch zu erhöhen und eventuelle Fehlerquellen erkennen zu können, führten wir bei unseren Untersuchungen stets Doppel- oder Dreifachbestimmungen durch. Falsche Ergebnisse können vor allem entstehen, wenn beim Abpipettieren des Se-

rums von der Oberfläche des Blutkuchens Leukozyten mit aufgezogen werden. Es empfiehlt sich deshalb, zwischen dem unteren Ende der Pipette und dem Blutkuchen beim Abheben des Serums einen Abstand von etwa 1 cm zu wahren.

Nach unseren Erfahrungen ist der Zusatz von 0,5 ml physiologischer Kochsalzlösung zum Reaktionsgemisch überflüssig. Dieser Zusatz sollte es ermöglichen, bei nur sehr schwach positiven Seren die Serummenge unter Weglassen der 0,5 ml Kochsalzlösung auf 1,0 ml erhöhen zu können, ohne die Pyrogallol- oder Wasserstoffsuperoxydkonzentration zu verändern. Da wir feststellen konnten, daß es derartig schwach reagierende Seren nicht gibt, erübrigt sich die Zugabe der 0,5 ml physiologischer Kochsalzlösung als überflüssiger Arbeitsgang.

Wir gingen demgemäß bei unseren Untersuchungen nach folgender Methodik vor: Das durch Venenpunktion gewonnene Blut wird in einem Zentrifugenröhrchen 2 - 3 Stunden bei Zimmertemperatur aufbewahrt, anschließend bei 3000 U/Min. 30 Minuten lang zentrifugiert. Das Serum wird unter peinlicher Vermeidung der Aspiration fester Blutbestandteile vom Blutkuchen abgehoben und in ein zweites Röhrchen gegeben, aus dem die Entnahme für die Reaktion erfolgt. Man gibt zu 0,5 ml Serum 1,0 ml Pufferlösung, 1,0 ml Pyrogallollösung und 1,0 ml Wasserstoffsuperoxydlösung und inkubiert das Reaktionsgemisch 15 Minuten bei 20°. Anschließend wird 1,0 ml Schwefelsäure zugegeben und damit die Reaktion unterbrochen. Beim Leerwert wird die Schwefelsäure sofort zugegeben. Das Reaktionsgemisch wird im Elko-Kolorimeter mit dem Filter S 42 E 52 bei einer Schichtdicke von 10 mm gegen den Leerwert

gemessen. Die Eichung erfolgte, entsprechend der Vorschrift von BÜNTE und DEMLING, mit reiner Purpurogallinlösung in Konzentrationen von 1 bis 50 mg%, von der 1,0 ml mit 1,0 ml Pufferlösung, 1,0 ml Schwefelsäure und 1,5 ml Wasser gemischt und die Extinktion gegen Wasser gemessen wurde. Eine Leukozytenperoxydaseaktivitätseinheit (LPE) entspricht der Extinktion, die bei Verwendung von 1 mg%iger Purpurogallinlösung im oben angegebenen Gemisch gemessen wird.

Die im Folgenden beschriebenen Untersuchungen wurden ausschließlich nach dieser Arbeitsvorschrift durchgeführt.

III. Klinischer Teil.

1. Peroxydase im Normalserum.

Über das Vorkommen der Serumperoxydase bei Normalpersonen liegen bisher unterschiedliche Beobachtungen vor. HENNING, DEMLING und HÄRTLEIN stellten bei ihren Untersuchungen mit der Benzidinmethode fest, daß Normalserum stets einen negativen Ausfall zeigt. KOCH und MECHOW sprechen von der Problematik des Begriffs "Normalperson", der sich darin zeigt, daß Serumperoxydase gelegentlich auch bei ganz gesunden Personen nachzuweisen ist. Bei der Untersuchung von 200 Normalseren mit der Pyrogallolmethode fanden BÜNTE und DEMLING einen Mittelwert der Peroxydaseaktivität von 18 LPE mit einer Standardabweichung von ± 5 Einheiten.

Bei unseren Untersuchungen über das Vorkommen von Serumperoxydase im Normalserum verwendeten wir als Normalpersonen Blutspender. Da es sich bei Blutspendern fast ausschließlich um gesunde, kräftige Menschen handelt, die zudem

einer ständigen ärztlichen Kontrolle unterliegen, schien uns bei ihnen der Begriff der "Normalperson" am ehesten gegeben. Das Alter der von uns untersuchten Spender lag zwischen 17 und 57 Jahren.

Wie bereits oben erwähnt, stellten wir schon bei der Untersuchung von 60 Blutspendern mit der Benzidinmethode in allen Fällen eine positive Reaktion fest (mittlere Extinktion 0,242).

Mit der Pyrogallolmethode untersuchten wir die Seren von insgesamt 200 Blutspendern. Wir fanden in allen Seren eine positive Reaktion. Die statistische Verteilung ist in Abb. 1 graphisch dargestellt. Der Mittelwert liegt bei 14,75 LPE mit einer Standardabweichung $\sigma = \sqrt{\frac{d^2}{N-1}} = 3,92$ LPE (d^2 = Summe aller ins Quadrat erhobenen Abweichungen der Einzelwerte vom Mittelwert, N = Gesamtzahl der Einzelwerte).

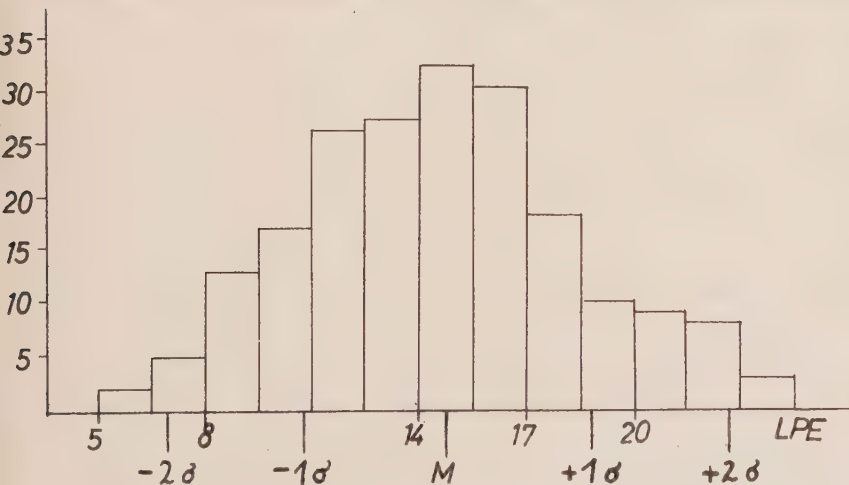


Abb. 1. Die Streuung der Serumperoxydaseaktivität bei gesunden Normalpersonen (untersucht an 200 Blutspendern). Ordinate: Zahl der Einzelwerte. Abszisse: Einheiten der Leukozytenperoxydase-Aktivität des Serums.

Nach diesen quantitativen Untersuchungen muß man die Serumperoxydase als einen physiologischen Bestandteil des menschlichen Serums ansehen.

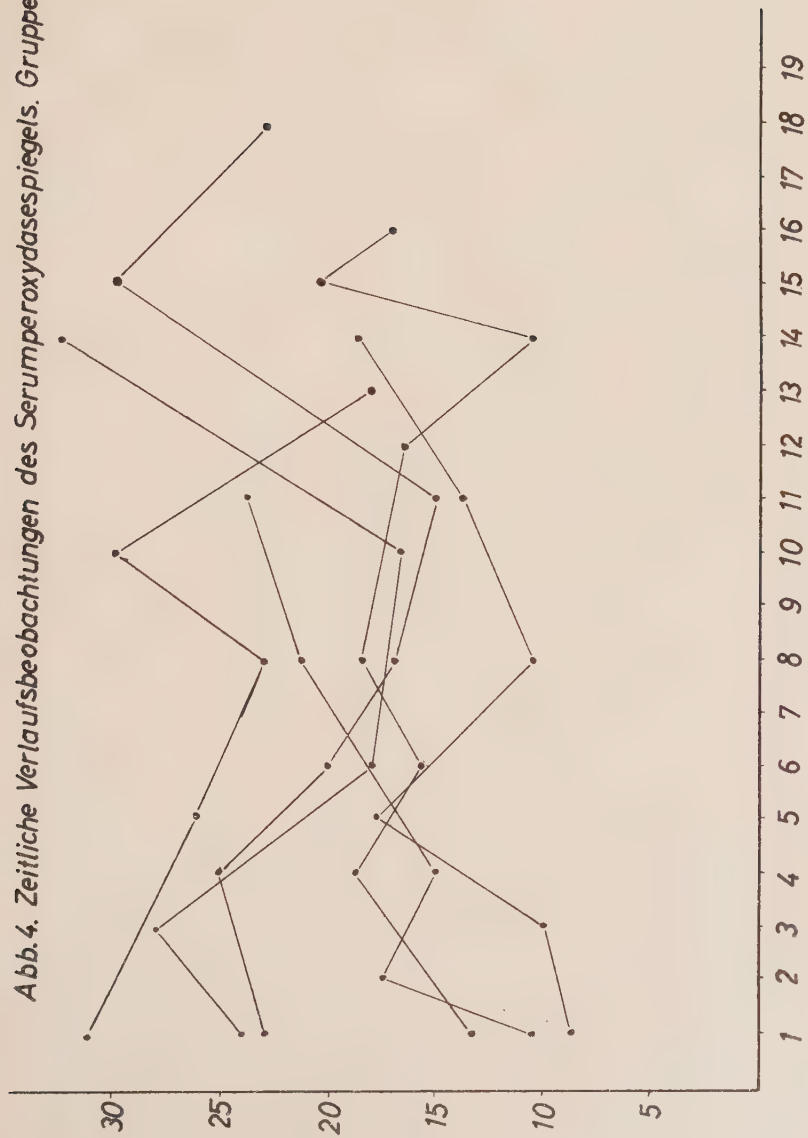
2. Orientierende Verlaufsbeobachtungen an 46 Patienten.

Es interessierte vor allem die Frage, inwieweit der Peroxydasespiegel des menschlichen Serums konstant ist und unter welchen Bedingungen er schwankt. Wir kontrollierten deshalb bei 46 Patienten den Serumperoxydasespiegel in fortlaufenden, 2-4-tägigen Untersuchungen über 2-3 Wochen. Gleichzeitig wurden Temperatur und Leukozytenzahl bestimmt. Nach dem Ergebnis dieser Untersuchungen kann man drei Gruppen unterscheiden.

In der ersten Gruppe von 24 Patienten (Abb. 2) blieb der Peroxydasespiegel innerhalb des Beobachtungszeitraums völlig konstant. Bei 10 Patienten dieser Gruppe handelte es sich um vorwiegend funktionelle Beschwerden im Sinne einer vegetativen Dystonie, bei 4 Patienten lag eine Herzinsuffizienz vor; weiterhin handelte es sich um je 2 Fälle von Hypertonie, primär chronischer Polyarthrititis und Ösophaguscarcinom, 1 Fall von Arthrosis deformans, 1 Fall von Gallenblasencarcinom, 1 Fall von Bronchialcarcinom und 1 Fall von Fibrosarkom des Unterkiefers. Bei allen Patienten dieser Gruppe waren die Leukozytenwerte konstant, in keinem Fall kam es zu Temperatursteigerungen innerhalb der Beobachtungszeit.

Die zweite Gruppe (Abb. 3) umfaßt 16 Patienten: 3 Fälle von primär chronischer Polyarthrititis, 2 Fälle von Eisenmangelanämie, 2 Fälle von chronischer Myelose, 2 Fälle von chronischer Pneumonie, 1 Fall von chronischer Lymphadenose,

Abb. 4. Zeitliche Verlaufsbeobachtungen des Serumperoxydasespiegels. Gruppe 3.



1 Fall von Myelom, 1 Fall von paroxysmaler Tachykardie, 1 Fall von Colitis ulcerosa, 1 Fall von chronischer Nephritis, 1 Fall von Hypothyreose und 1 Fall von Ösophaguscarcinom. In dieser Gruppe kam es zu vereinzeltten Schwankungen der Serumperoxydaseaktivität, der Peroxydasespiegel blieb aber sonst konstant. Beim Vergleich mit den übrigen klinischen Daten ließ sich feststellen, daß der Peroxydaseanstieg in 14 Fällen mit einer Temperaturerhöhung zeitlich zusammenfiel und in 2 Fällen im Anschluß an eine Bluttransfusion auftrat. In einem Fall bestand keine Beziehung zu anderen klinischen Daten. Die Leukozytenzahlen waren auch in dieser Gruppe im Beobachtungszeitraum keinen Schwankungen unterworfen.

Bei der dritten Gruppe von 6 Patienten erschien der Serumperoxydasespiegel völlig inkonstant (Abb.4). Es handelte sich um 1 Fall von Colitis ulcerosa mit Leukozytenwerten um 12 000, 1 Fall von akuter Pankreatitis mit Leukozytenzahlen zwischen 10 000 und 26 000, 1 Fall von chronischer lymphatischer Leukämie mit fieberhaften Schüben bei intermittierenden Venenentzündungen, wobei die Leukozytenzahlen zwischen 6 000 und 30 000 schwankten, 1 Fall von fieberhafter Thrombophlebitis mit Leukozytenwerten um 13 000, 1 Fall von Pleuritis carcinomatosa und 1 Fall von akuter Cholecystitis mit Leukozytenwerten, die zwischen 10 000 und 17 000 schwankten. Auch bei diesen Patienten fielen in der Mehrzahl der Fälle Peroxydaseanstieg und Temperaturerhöhung zeitlich zusammen.

Aus diesen orientierenden Untersuchungen zogen wir folgende vorläufige Schlüsse:

1. Bei Personen mit normalen Temperaturen und normalen, konstanten Leukozytenzahlen ist der Serumperoxydasespiegel konstant.
2. Es bestehen Beziehungen zwischen Temperaturanstieg und Anstieg der Serumperoxydaseaktivität. Ein Anstieg der Serumperoxydase fällt in den meisten Fällen zeitlich mit einer Temperatursteigerung zusammen.
3. Es bestehen keine direkten Beziehungen zwischen Leukozytenzahl und Serumperoxydaseaktivität in dem Sinne, daß erhöhte Leukozytenzahlen einen ständig erhöhten Serumperoxydasespiegel bedingen.
4. Bei akuten entzündlichen Prozessen, die mit großen Schwankungen der Leukozytenzahl einhergehen, ist die sonst zu beobachtende relative Konstanz des Serumperoxydasespiegels aufgehoben.

Zur Klärung dieser Beobachtungen unternahmen wir weitere Versuche.

3. Über den Anstieg der Serumperoxydase bei Fieber.

Um die Beziehungen zwischen Serumperoxydaseaktivität und Körpertemperatur zu objektivieren, kontrollierten wir den Serumperoxydasespiegel bei künstlich durch Injektion von Pyrexal erzeugten Temperaturanstiegen. Es wurden 5 Versuche angestellt. Bei ähnlichen Untersuchungen mit der Benzidinmethode haben bereits HENNING, DEMLING und HÄRTLEIN einen Anstieg der Serumperoxydase beobachtet. Wir konnten diese Beobachtungen bestätigen. In allen Fällen sahen wir einen Anstieg der Serumperoxydase, der bereits nach einigen Stunden einsetzte und nach 20 bis 24 Stunden sein Maximum

erreichte (Abb.5). Innerhalb von 2 bis 3 Tagen normalisierten sich die Werte und gingen auf den Ausgangspunkt zurück.

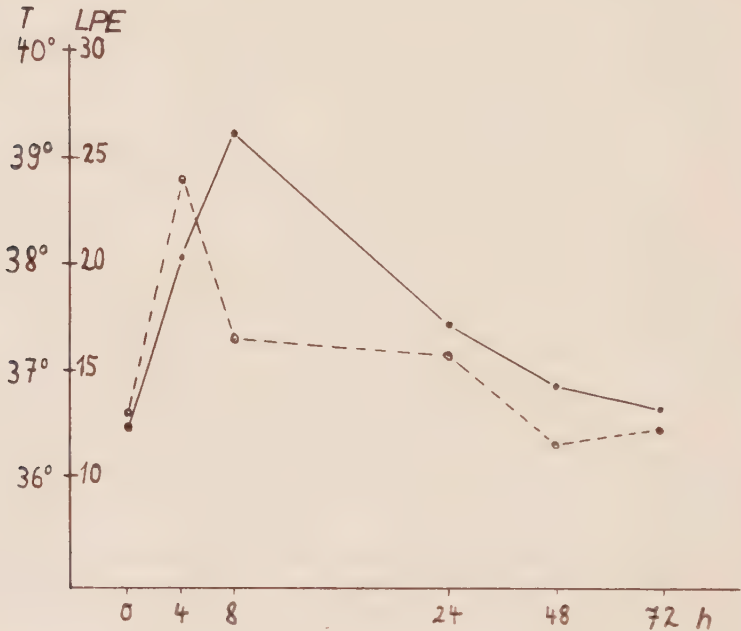


Abb. 5. Das Verhalten von Temperatur (---) und Serumperoxydase (—) nach Injektion von 0,2g Pyrexal. Ordinate: Temperatur in Graden, Serumperoxydase in Leukozytenperoxydase-Einheiten. Abszisse: Zeit nach der Injektion in Stunden.

4. Über das Verhalten der Serumperoxydase nach Bluttransfusionen.

Bei den orientierenden Verlaufsuntersuchungen sahen wir in 2 Fällen einen Anstieg der Serumperoxydase nach Bluttransfusionen. Wir haben daraufhin in weiteren 7 Fällen den Serumperoxydasespiegel nach Bluttransfusionen kontrolliert.

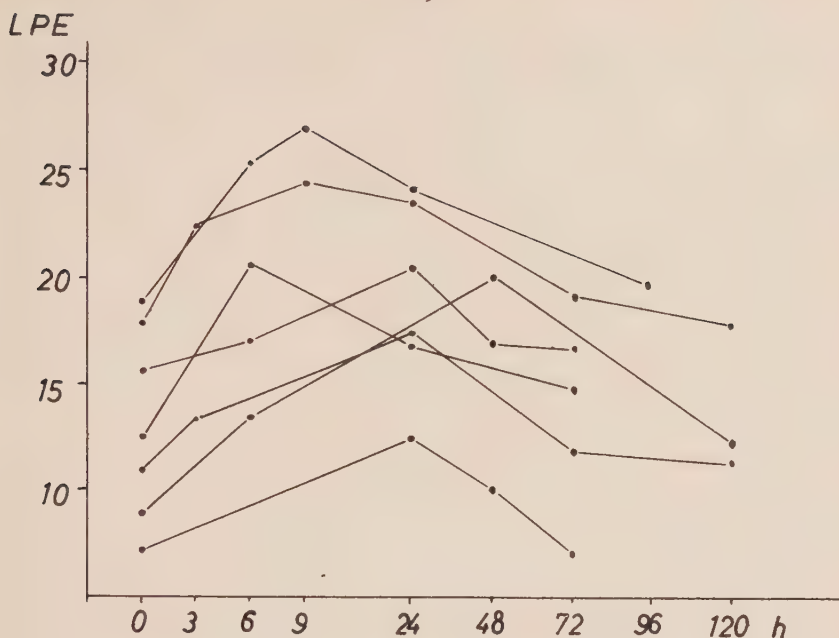


Abb. 6. Das Verhalten der Serumperoxydase nach Bluttransfusionen in 7 Fällen. Ordinate: Serumperoxydase in Leukozytenperoxydase-Einheiten. Abszisse: Zeit, vom Beginn der Transfusion gerechnet, in Stunden.

In allen Fällen stieg die Serumperoxydase deutlich an (Abb.6). Der Anstieg trat sofort nach der Transfusion ein, erreichte aber sein Maximum erst später (9-24 Stunden nach der Transfusion). Nach 3 bis 5 Tagen normalisierten sich die Werte und kehrten auf den Ausgangspunkt zurück.

Die Untersuchung der Peroxydaseaktivität des Konservenbluts, die in 3 Fällen erfolgte, ergab Werte von 29, 32 und 34 LPE. Diese Werte sind gegenüber den Blutspendernormalwerten eindeutig erhöht.

5. Die Serumperoxydaseaktivität im Knochenmarkblut.

Alle bisherigen Untersuchungen über die Serumperoxydaseaktivität erfolgten unter Verwendung von Venenblut. Über den Serumperoxydasegehalt des Knochenmarkblutes liegen bisher keine Beobachtungen vor.

Wir untersuchten bei 6 Patienten den Serumperoxydasegehalt des Knochenmarkblutes, das durch Sternalpunktion gewonnen wurde. Gleichzeitig bestimmten wir die Peroxydaseaktivität im Venenblut (Tab.3).

Tabelle 3.

Serumperoxydaseaktivität im Knochenmarkblut und Venenblut von 6 Patienten. Angaben in LPE.

Knochenmarkblut	Venenblut
19,21	16,79
25,74	14,77
29,84	22,38
32,08	15,60
34,12	16,04
35,25	21,63

In allen Fällen lag der Serumperoxydasespiegel des Knochenmarkblutes erheblich höher als der des Venenblutes. Bestimmte Beziehungen zwischen beiden Werten lassen sich naturgemäß nicht finden, da der Gehalt des Knochenmarkblutes an Mark größten Schwankungen unterworfen ist.

6. Die Serumperoxydase bei Störungen der Myelopoese.

Im Rahmen der orientierenden Voruntersuchung war uns

aufgefallen, daß eine direkte Beziehung zwischen Leukozytenzahl und Peroxydaseaktivität in den meisten Fällen fehlt. Ähnliche Befunde haben bereits KWASNIEWSKI und HENNING in ihrer ersten Mitteilung über die peroxydatische Wirksamkeit menschlichen Serums beschrieben. Sie fanden zwar peroxydatische Wirksamkeit im Serum von Leukämien und Infektleukozytosen, mußten aber feststellen, daß die Reaktion bei Leukämien und massiven Leukozytosen auch negativ sein kann. HENNING, DEMLING und HÄRTLEIN sahen später bei ihren halbquantitativen Untersuchungen mit der Benzidinmethode stark positive Reaktionen bei chronischen Myelosen und bei entzündlichen Erkrankungen mit Leukozytose, konnten diese Befunde aber auch nicht in allen Fällen erheben. KOCH und MECHOW kommen zu dem Schluß, daß Serumperoxydaseaktivität und Abbauzellreaktion (leukozytäre Abbauzellen treten bei verstärktem Granulozytenabbau im menschlichen Blut vermehrt auf) nicht abhängig von der Leukozytenzahl sind. Eingehendere quantitative Untersuchungen über diesen Fragenkomplex, insbesondere über das Verhalten der Serumperoxydase bei Leukämien, standen bisher aus.

Wir bestimmten die Serumperoxydaseaktivität bei 21 Patienten mit Störungen der Myelopoese. Gleichzeitig wurden die Leukozytenzahl und an Hand des Differentialblutbildes die absolute Granulozytenzahl festgestellt (ohne Berücksichtigung der zahlenmäßig zu vernachlässigenden Monozyten). Die Ergebnisse unserer Untersuchungen sind in Tabelle 4 zusammengestellt. Man sieht, daß auch bei Myelosen und Leukozytosen mit hohen Granulozytenzahlen die Serumperoxydase im allgemeinen im Normalbereich bleibt. Eindeutig erhöhte Werte

Tabelle 4.

Serumperoxydasespiegel, Leukozytenzahl und absolute Zahl der Granulozyten bei 21 Patienten mit Störungen der Myelopoese.

Geschlecht Alter	Diagnose	Leukoz.	Per.pos. Gran.	LPE
♂ 24 J.	chron. Myelose	281 000	266 950	26,55
♂ 25 J.	chron. Myelose	300 000	261 000	17,90
♂ 26 J.	chron. Myelose	200 000	172 000	33,00
♀ 38 J.	chron. Myelose	150 000	135 000	12,30
♀ 50 J.	chron. Myelose	117 000	113 100	10,50
♀ 31 J.	chron. Myelose	118 400	106 560	20,52
♀ 75 J.	chron. Myelose	9 550	4 775	13,70
♀ 50 J.	akute Myelose	30 000	18 000	23,50
♂ 17 J.	akute Myelose	16 820	8 410	11,00
♀ 36 J.	akute Myelose	49 400	2 470	15,67
♀ 66 J.	chron.Lymphadenose	237 400	30 862	17,16
♂ 66 J.	chron.Lymphadenose	74 400	17 112	15,86
♀ 74 J.	chron.Lymphadenose	22 000	6 160	9,45
♂ 50 J.	chron.Lymphadenose	73 600	4 416	23,50
♀ 75 J.	leukämoide Reaktion	45 600	40 128	16,34
♀ 76 J.	Leukozytose	26 000	23 400	23,60
♀ 20 J.	Leukozytose	14 920	11 936	15,82
♂ 63 J.	Osteomyelosklerose	19 200	12 672	16,41
♂ 64 J.	Osteomyelosklerose	5 600	4 536	7,90
♀ 61 J.	Reticulose	2 450	1 568	20,21
♀ 71 J.	Panmyelophthise	2 500	1 575	6,90

finden sich lediglich bei zwei chronischen Myelosen. Bei der einzigen Panmyelophthase unseres Krankengutes lagen die Werte, wie wir durch mehrmalige Kontrolle bestätigen konnten, stets an der unteren Grenze der Norm.

Insgesamt lassen sich bei Störungen der Myelopoese in den meisten Fällen keine eindeutigen Beziehungen zwischen Granulozytenzahl und Granulozytenumsatz auf der einen und der Serumperoxydaseaktivität auf der anderen Seite erkennen.

7. Untersuchungen über die mögliche Beeinflussung der Serumperoxydase durch Röntgenstrahlen.

Es ist bekannt, daß Strahlenschäden zu starken hämatologischen Veränderungen führen. Zu den strahlenempfindlichsten Geweben des menschlichen Körpers zählt das leukopoetische System. Unter der Einwirkung von Röntgenstrahlen auf den menschlichen Organismus kommt es zu einer Leukopenie, deren Ausmaß von der Strahlungs dosis abhängig ist. Diese Veränderungen beruhen vor allem auf einer Hemmung der Leukopoese durch Schädigung des Knochenmarks. Inwieweit sie auf einer stärkeren Hinfälligkeit der im peripheren Blut von der Bestrahlung betroffenen oder der vom geschädigten Knochenmark später produzierten Leukozyten beruhen, ist nicht genau bekannt. NEUMANN studierte die Einwirkung von Röntgenstrahlen auf Leukozyten in vitro und sah einen beschleunigten Zerfall der Leukozyten durch erhöhte Zerreiblichkeit und stärkere Autolyse. Auch eine in vivo durchgeführte Milzbestrahlung führt nach SZILARD zu erhöhter Hinfälligkeit der Leukozyten.

Da wir in der Serumperoxydase eine Substanz vor uns haben, die nur in den Granulozyten vorkommt, stellte sich die Frage, ob man aus dem Serumperoxydasespiegel einen Anhaltspunkt für eine erhöhte Hinfälligkeit der Granulozyten und damit für eine Strahlenschädigung gewinnen kann.

a) in vitro - Versuche.

Die Beeinflussung der Serumperoxydase durch Röntgenbestrahlungen wurde zunächst in vitro untersucht. Hierzu wurde frisches menschliches Blut durch Zusatz von 3,8%igem Natrium citricum im Verhältnis 9:1 ungerinnbar gemacht. Von diesem Citratblut wurden je 10 ml in Petrischälchen mit 5 cm Durchmesser abgefüllt und bei 30 cm Fokushautabstand, 3 mA und 120 KV den Röntgenstrahlen ausgesetzt. Nach entsprechender Zeit wurde das Blut nach einmaligem, vorsichtigem Durchmischen von Plasma und festen Blutbestandteilen zentrifugiert, das Plasma abgehoben und die Peroxydaseaktivität wie gewöhnlich bestimmt. Kontrolluntersuchungen erfolgten mit Blut, das in gleicher Weise behandelt, jedoch nicht bestrahlt wurde. Die Ergebnisse unserer Untersuchungen sind in den folgenden Abbildungen und Tabellen dargestellt.

Abb. 7 zeigt das zeitliche Verhalten der Serumperoxydase in Blut, das mit 500 r bestrahlt wurde. Bereits nach 4 Stunden steigt der Serumperoxydasespiegel deutlich an. Das Maximum ist nach 8 Stunden erreicht, nach 24 Stunden sinkt die Peroxydaseaktivität wieder ab. Dieses Absinken ist auf die jetzt einsetzende starke Hämolyse des bestrahlten Blutes zurückzuführen. Wir konnten im Verlaufe unserer Versuche mehrfach feststellen, daß stärkere Hämolyse zu einer quan-

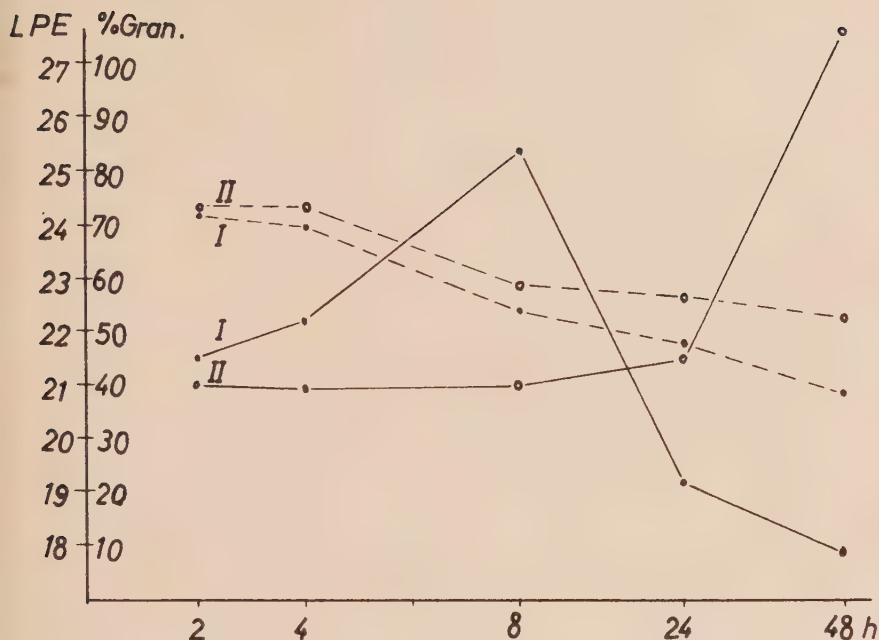


Abb. 7. Die Veränderungen der Serumperoxydaseaktivität (—) und des Prozentsatzes der peroxydasepositiven Leukozyten (---) nach 4, 8, 24 und 48 Stunden. I: in vitro mit 500 r bestrahltes Blut; II: unbestrahltes Kontrollblut. Ordinate: Serumperoxydase in Leukozyten-peroxydase-Einheiten, peroxydasepositive Leukozyten in Prozenten von der Gesamtzahl der Leukozyten. Abszisse: Zeit nach der Bestrahlung in Stunden.

titativ geringeren Peroxydasereaktion führt. Die Serumperoxydaseaktivität des unbestrahlten Kontrollblutes bleibt dagegen 24 Stunden nahezu konstant, um erst nach 48 Stunden stärker anzusteigen. Gleichzeitig mit den Serumperoxydasebestimmungen wurden von dem untersuchten Blut Ausstriche angefertigt, mit der Peroxydasefärbung nach Graham-Knoll ge-

färbt und differenziert. Eine Bestimmung der absoluten Leukozytenzahl war bei unserer Versuchsanordnung nicht möglich, da sedimentiertes Blut nicht mehr ausreichend homogenisiert werden kann, um verwertbare absolute Zahlen zu erhalten. Wir konnten deshalb nur den Prozentsatz der peroxydasepositiven Leukozyten in der Gesamtzahl der weißen Blutkörperchen bestimmen und in Beziehung zu der Serumperoxydaseaktivität setzen. Es zeigt sich, daß im bestrahlten Blut die peroxydasepositiven Leukozyten deutlich stärker absinken, als im unbestrahlten Kontrollblut.

Die Abhängigkeit des Serumperoxydaseanstiegs von der Bestrahlungsdosis ist in Abb. 8 graphisch dargestellt. Die

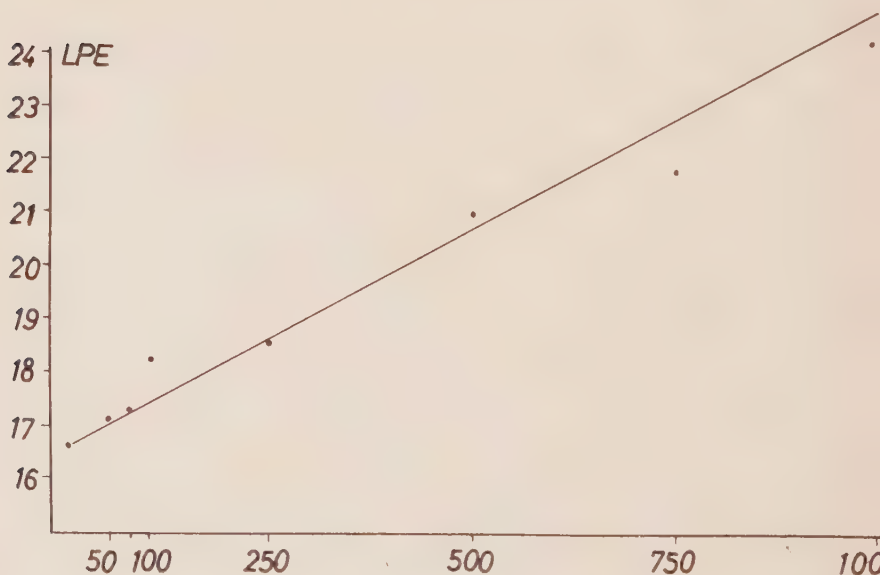


Abb. 8. Der Serumperoxydasegehalt von Blut, das mit verschiedenen Dosen von 0 bis 1000 r in vitro bestrahlt wurde, 8 Stunden nach der Bestrahlung. Ordinate: Peroxydase in LPE. Abszisse: Strahlungsdosen in r .

Serumperoxydase wurde bestimmt 8 Stunden nach Einwirkung verschiedener Dosierungsstufen zwischen 0 und 1000 r auf das Blut des gleichen Patienten. Die graphische Darstellung zeigt, daß zwischen Strahlungs-dosis und Serumperoxydaseanstieg eine direkte Beziehung besteht.

Schon bei den orientierenden Verlaufsbeobachtungen konnten wir keine direkten quantitativen Beziehungen zwischen Leukozyten- bzw. Granulozytenzahl und Serumperoxydaseaktivität feststellen. Zur Klärung einer möglichen Beziehung zwischen Granulozytenzahl und Peroxydaseanstieg bestrahlten Blutes wurden in 8 Fällen im Blut gesunder Versuchspersonen

Tabelle 5.

Der Serumperoxydasegehalt mit 500 r in vitro bestrahlter Blutproben, verglichen mit den unbestrahlten Kontrollen (8 Stunden nach der Bestrahlung gemessen). Die Aktivitätssteigerung des bestrahlten Blutes ist der Leukozytenzahl und der absoluten Granulozytenzahl der Blutproben gegenübergestellt.

LPE Kontrollblut	LPE Bestrahlt.Blut	LPE Anstieg	Leukoz.	Per.pos. Gran.
23,32	24,58	1,26	5 830	3 207
9,70	12,24	2,54	6 650	3 192
14,06	16,83	2,77	10 250	6 765
16,10	19,70	3,60	4 400	2 728
20,96	25,30	4,34	5 000	3 600
11,26	15,93	4,67	5 450	3 760
15,78	20,48	4,70	6 000	4 500
15,78	21,23	5,45	5 850	3 686
13,95	21,78	7,83	5 500	3 575

die Leukozyten gezählt und an Hand eines mit der Peroxydasefärbung gefärbten Ausstrichs die absolute Zahl der peroxydasepositiven Leukozyten errechnet. Das frische Blut wurde sodann nach der oben beschriebenen Vorschrift mit 500 r bestrahlt und die Serumperoxydaseaktivität nach 8 Stunden bestimmt. Kontrollen erfolgten mit unbestrahltem Blut. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in Tabelle 5 angegeben. In allen 8 Blutproben war die Serumperoxydaseaktivität der bestrahlten Fraktion deutlich höher als die der unbestrahlten. Die Gegenüberstellung von Peroxydaseanstieg und absoluter Granulozytenzahl ergibt keine Beziehungen. Dies stimmt mit den Ergebnissen unserer orientierenden Verlaufsbeobachtungen überein.

b) Klinische Verlaufsbeobachtungen.

Nachdem wir festgestellt hatten, daß die in vitro - Bestrahlung menschlichen Blutes zu einem Anstieg der Serumperoxydaseaktivität führt, überprüften wir das Verhalten der Serumperoxydase bei 24 Patienten im Verlaufe längerer Röntgenbestrahlungen, die aus therapeutischen Gründen erfolgten. Die erste Peroxydasebestimmung wurde jeweils vor der ersten Bestrahlung, entweder am gleichen Tag oder einen Tag vorher, durchgeführt. In 2-4tägigen Abständen wurde sodann der Serumperoxydasespiegel über 2 bis 4 Wochen kontrolliert, wobei besonderer Wert auf die ersten Tage der Bestrahlungsperiode gelegt wurde.

Das Ergebnis der Untersuchungen ist aus Tabelle 6 ersichtlich. Bei 15 Patienten (Nr. 1 - 15) blieb der Serumperoxydasespiegel unter der Bestrahlung völlig konstant. In

Tabelle 6.

Das Verhalten der Serumperoxydase unter Röntgenbestrahlungen bei 24 Patienten.

Nr.	Geschlecht Alter	Diagnose	Art der Bestrahlung	LPE vor Bestr.	LPE nach Bestr.
1	♀ 72 J.	Ösophaguscarcinom	Rotationsbestrahlung	14,92	14,28
2	♀ 47 J.	Gallenblasencarcinom	Leberpforte	14,60	15,29
3	♂ 73 J.	Magencarcinom	Abdomen	16,54	17,16
4	♂ 78 J.	Coloncarcinom	Abdomen	12,68	12,46
5	♂ 70 J.	metastas.Prostatacarcinom	LWS und Rippenbögen	14,92	14,36
6	♀ 75 J.	chron.Myelose	Milz	10,07	10,44
7	♀ 61 J.	Carcinomatose	Teilkörperbestrahlung	14,92	14,26
8	♂ 63 J.	Arthrosis deformans	Kniegelenke	17,16	17,00
9	♂ 24 J.	Seminometastasen	Oberbauch	11,23	11,56
10	♀ 66 J.	Arthrosis deformans	Knie- und Hüftgelenke	18,65	18,09
11	♀ 34 J.	M. Hodgkin	supraclavikul. Drüsen	10,90	11,23
12	♂ 60 J.	Ösophaguscarcinom	Rotationsbestrahlung	14,92	14,07
13	♀ 62 J.	Magencarcinom	Oberbauch	15,93	16,26
14	♂ 45 J.	M. Hodgkin	Abdomen	7,83	8,21
15	♂ 27 J.	Retothelsark.	Hilusdrüsen	23,87	23,50
16	♀ 53 J.	Metastas.Tonsillencarc.	li.Thoraxseite	13,54	18,28
17	♂ 18 J.	Rachentumor	li.und re. Halsseite	12,20	18,05
18	♀ 56 J.	Rektumcarcinom	Becken	16,41	12,05
19	♂ 25 J.	chron.Myelose	Milz	21,63	12,05
20	♂ 52 J.	Bronchialcarcinom	re.Lungenoberfeld	12,87	17,86
21	♂ 63 J.	Bronchialcarcinom	re.Lungenmittelfeld	10,37	16,14
22	♂ 31 J.	Magencarcinom	Rotationsbestrahlung	9,06	18,24
23	♂ 53 J.	Bronchialcarcinom	re.Lungenoberfeld	12,83	18,12
24	♂ 71 J.	Retothelsarkom	re. Hilus	17,68	24,73

4 Fällen (Nr. 16 - 19) kam es zu einzelnen Schwankungen, die aber nicht als Strahlungsfolge zu erklären sind; in 2 Fällen trat ein Peroxydaseanstieg im Gefolge einer Temperaturerhöhung auf (Nr. 16 - 17), in den beiden anderen Fällen sank der Fermentspiegel bei der Normalisierung bisher erhöhter Temperaturen (Nr. 18) bzw. nach einer einen Tag vor Bestrahlungsbeginn vorgenommenen Bluttransfusion (Nr. 19). Nur bei 5 Patienten (Nr. 20 - 24) kam es unter der Bestrahlung zu einem deutlichen Anstieg der Serumperoxydaseaktivität. Der Anstieg erfolgte am ersten oder zweiten Tag nach Bestrahlungsbeginn und hielt nur kurze Zeit an (siehe Abb. 9). Bei diesen 5 Patienten handelt es sich um 4 Lungenbestrahlungen (von insgesamt 5 Lungenbestrahlungen unseres Krankengutes) und um eine Rotationsbestrahlung bei Magencarcinom.

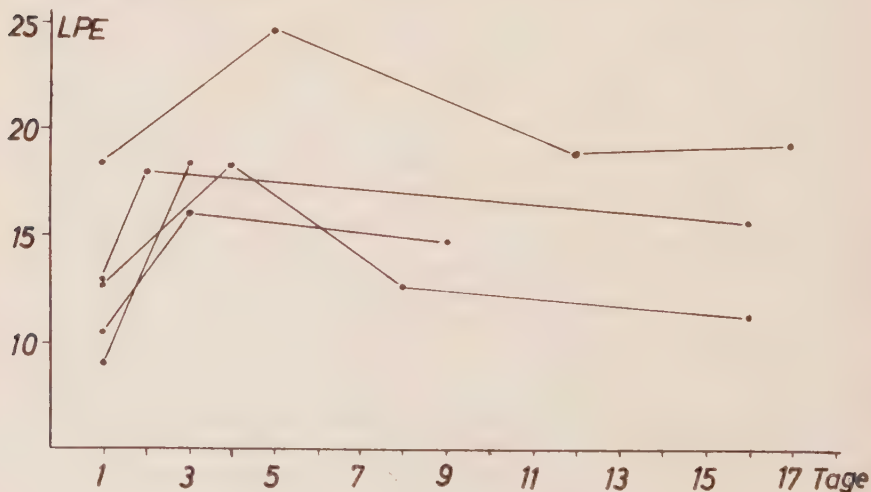


Abb. 9. Die Veränderungen des Serumperoxydasespiegels bei 5 bestrahlten Patienten (Nr. 20 - 24 der Tab. 6). Ordinate: Serumperoxydase in LPE. Abszisse: Tage nach Beginn der Bestrahlung.

IV. Diskussion.

Zahlreiche Untersuchungen aller Gewebs- und Zellarten haben bewiesen, daß eine echte Peroxydase im menschlichen Organismus nur in den Granulozyten enthalten ist. Das Vorkommen einer Peroxydase im menschlichen Serum wurde anfänglich bestritten, konnte dann aber einwandfrei bewiesen werden. Es lag die Vermutung nahe, daß die als echte Peroxydase erkannte Serumperoxydase mit der Myeloperoxydase der Granulozyten identisch ist, und daß Beziehungen zwischen Serumperoxydasespiegel und Granulozytenumsatz bestehen. Vor allem HENNING, DEMLING und HÄRTLEIN konnten nachweisen, daß als Ursprungsort für die Serumperoxydase außer den zahlenmäßig geringen Monozyten nur die Granulozyten in Betracht kommen, und daß der Ausfall der Fermentreaktion von einem hohen Leukozytenzerfall beeinflußt wird. Allerdings stellten diese und auch andere Autoren fest, daß in vielen Fällen Leukozytenzahl und Leukozytenumsatz mit dem Peroxydasegehalt des Serums nicht übereinstimmen.

Alle bisherigen Untersuchungen erfolgten nur mit qualitativen oder halbquantitativen Methoden, bei denen das Ergebnis weitgehend von der subjektiven Einstellung des Untersuchers abhängig ist. Mit der Pyrogallolmethode nach BÜNTE und DEMLING war es nun erstmals möglich, genaue quantitative Bestimmungen der Serumperoxydaseaktivität durchzuführen und auch kleinere Aktivitäten sowie geringe Schwankungen des Fermentspiegels zu erfassen.

An Hand dieser Methode konnten wir bei der Untersuchung von 200 Blutspendern feststellen, daß die Serumperoxydase ein normaler Bestandteil des menschlichen Serums ist. Gegen-

teilige ältere Ansichten sind wohl im wesentlichen auf die ungenauere Untersuchungsmethodik zurückzuführen.

Die orientierenden Verlaufsbeobachtungen sowie auch die Verlaufsbeobachtungen an bestrahlten Patienten lassen erkennen, daß bei Personen mit normaler Leukozytenzahl und normalen Temperaturen der Serumperoxydasespiegel konstant ist.

Welches sind nun die Bedingungen, unter denen sich der Peroxydasegehalt im Serum ändert? HENNING, DEMLING und HÄRTLEIN sahen sie vor allem im Granulozytenzerfall. Wir konnten feststellen, daß der Serumperoxydasegehalt von Blut, welches man einige Zeit in vitro stehen läßt, ansteigt (siehe Abb.7); gleichzeitig verringert sich die Zahl der Granulozyten. Wenn man dagegen das Serum vom Blutkuchen trennt, steigt der Serumperoxydasegehalt auch nach mehrtägiger Aufbewahrung nicht an. Zweifellos ist bei diesen in vitro - Versuchen der Fermentanstieg auf den Zerfall der Granulozyten und das Freiwerden ihrer Peroxydase zurückzuführen. Ebenso erklärt sich der hohe Fermentgehalt von Konservenblut, in dem durch längere Aufbewahrung ein großer Teil der Granulozyten bereits zerfallen ist. Auch der Anstieg der Serumperoxydase nach Transfusionen, der erst nach 9 bis 24 Stunden sein Maximum erreicht, ist aus dem Zerfall der zugeführten Granulozyten zu erklären.

Uns fiel in zahlreichen Fällen ein zeitliches Zusammenreffen von Peroxydaseanstieg und Temperaturerhöhung auf. Die Überprüfung des Fermentspiegels bei künstlich mit Pyrexal erzeugtem Fieber zeigte einen Anstieg in allen Fällen. Es ist allgemein bekannt und eingehend untersucht, daß es bei derartigen Fieberkuren zu einer Leukozytose, vornehmlich

einer Granulozytose kommt. Wenn man annimmt, daß es sich hierbei um eine echte Produktionsleukozytose handelt, läßt sich die Erhöhung des Serumperoxydasespiegels durch das Freiwerden von Fermentmengen beim Zerfall der zusätzlich produzierten Granulozyten erklären. Allerdings müßte der Fermentanstieg, wenn man mit einer Granulozytenlebensdauer von vier Tagen rechnet, erst vier Tage nach der Fieberkur auftreten, dann nämlich, wenn die Lebenszeit der zusätzlich produzierten Granulozyten beendet ist. Er tritt aber schon wenige Stunden nach dem Temperaturanstieg auf und ist nach zwei bis drei Tagen bereits beendet. Hier erscheint es schon fraglich, ob der erhöhte Granulozytenzerfall der einzige Faktor ist, der eine Serumperoxydasesteigerung bedingt.

Die Ergebnisse unserer Knochenmarkblutuntersuchungen deuten darauf hin, daß die Serumperoxydase vielleicht auch bei der Granulozytenproduktion an der Produktionsstätte, dem Knochenmark, frei wird und ins Serum gelangt. Mit dieser These ließe sich die sofort nach dem Temperaturanstieg zusammen mit der Leukozytose auftretende Serumperoxydaseerhöhung erklären. Es muß jedoch berücksichtigt werden, daß durch die Punktionstechnik unreife Zellen möglicherweise zerstört werden können und dadurch der hohe Peroxydasegehalt des Knochenmarkblutes, wenigstens teilweise, mitbedingt sein kann.

Auffällig bleibt das Verhalten der Serumperoxydase bei Leukozytosen und Leukämien. Hier müßte man konstant hohe Werte erwarten, da sowohl Leukozytenproduktion als auch Leukozytenzerfall stark gesteigert sind. Die Werte sind aber in den meisten Fällen nicht erhöht. Nun ist es ja überhaupt frag-

lich, ob beim Granulozytenabbau intra vitam unter physiologischen Verhältnissen Peroxydase frei wird und ins Serum gelangt, wie es in vitro der Fall ist. Ort und Mechanismus des Leukozytenuntergangs sind bis heute nicht restlos geklärt. Die Leukozyten werden nur zum Teil im Organismus selbst durch Makrophagenphagozytose abgebaut. Wahrscheinlich geht der größte Teil nach Schleimhautdiapedese mit dem Speichel und den übrigen Sekreten des Körpers verloren. Nach PITZURRA und FRASCARELLI verlassen täglich 35 Milliarden Leukozyten durch Schleimhautdurchwanderung den Körper. HENNING, DEMLING und HÄRTLEIN fanden positive Peroxydasereaktionen im Speichel und in der Tränenflüssigkeit, die sie als physiologische Vehikel für die Peroxydaseausscheidung bezeichneten. Es ist also durchaus nicht gesagt, daß jeder außergewöhnliche Abbau von Granulozyten zu einer Erhöhung der Serumperoxydase führen muß. Der Peroxydaseanstieg bei erhöhtem Granulozytenumsatz hängt davon ab, wieviel Granulozyten tatsächlich im Organismus zu Grunde gehen und ihre Fermente an die Umgebung abgeben. Deshalb fehlen in den meisten Fällen direkte Beziehungen zwischen Granulozytenzahl und -umsatz und der Serumperoxydaseaktivität. Starke, auf Granulozytenzerfall zurückzuführende Erhöhungen finden sich meist bei lokalen Entzündungen, bei denen die Leukozyten infolge des Abwehrkampfes im Körper zu Grunde gehen, nicht dagegen bei zentral ausgelösten Leukozytosen und Leukämien.

Der Serumperoxydasespiegel ist beim einzelnen Individuum konstant. Nach Schwankungen, die durch Fieberanstieg, Bluttransfusionen oder Röntgenbestrahlung hervorgerufen werden, erfolgt sehr schnell ein Rückgang des Peroxydasespie-

gels auf die Ausgangswerte. Im Zusammenhang mit den Forschungen SATOs und KURIBAYASHIs läßt dies an das Vorhandensein eines zentralen regulierenden Zentrums denken (Peroxydasezentrum nach KURIBAYASHI). Auch HENNING, DEMLING und HÄRTLEIN kamen bei klinischen Untersuchungen zu Ergebnissen, die auf eine zentrale Steuerung der Fermentproduktion in den myeloischen Elementen hinweisen. Der Peroxydaseanstieg bei Fieber läßt sich in dieser Sicht durch den gleichzeitigen Angriff der Fieber erzeugenden Noxen am Wärmezentrum und am Peroxydasezentrum erklären.

Interessant ist, daß der Serumperoxydasespiegel bei akut entzündlichen Prozessen völlig imkonstant ist. Hier sind bei dem starken Zerfall von Granulozyten innerhalb des Organismus die frei werdenden Fermentmengen allein abhängig von der Stärke der lokalen Entzündung und primär vom Peroxydasezentrum nicht zu beeinflussen, so daß der Fermentspiegel nicht konstant gehalten werden kann.

Insgesamt beweisen unsere Untersuchungen, daß erhöhter Granulozytenzerfall zu vorübergehendem Anstieg der Serumperoxydase führen kann, insbesondere dann, wenn die zerfallenden Granulozyten im Körper abgebaut werden. Sie zeigen aber gleichzeitig, daß dies nicht der einzige Faktor ist, der auf den Serumperoxydasespiegel Einfluß nimmt. Auch vermehrte Granulozytenproduktion erhöht die Serumperoxydase. Ferner existiert ein zentraler Regulationsmechanismus, der auf den Serumperoxydasespiegel Einfluß nimmt und konstante Werte garantiert.

Bei der in vitro - Bestrahlung von Blut mit Röntgenstrahlen wurde in allen Fällen eine Erhöhung der Serumper-

oxydaseaktivität nachgewiesen, die proportional der Bestrahlungsdosis zunahm. Sie beruht auf dem schnelleren Zerfall der bestrahlten Granulozyten. Bei der Untersuchung der Serumperoxydase an bestrahlten Patienten ergaben sich keine einheitlichen Befunde. Nur in 5 Fällen stieg die Serumperoxydase zu Beginn der Röntgentherapie kurzfristig an. Bei der Beurteilung dieser Ergebnisse ist an die obigen Ausführungen über Granulozytenzerfall und Serumperoxydase zu erinnern. Die im Körper durch die Röntgenstrahlen geschädigten und schneller zu Grunde gehenden Granulozyten können nur dann eine Serumperoxydasesteigerung bewirken, wenn sie im Organismus zerfallen und nicht durch Schleimhautdiapedese den Körper verlassen. Die beobachteten Peroxydasesteigerungen traten zumeist nach Bestrahlungen der Lunge, eines sehr blutreichen Organs, auf. Dies läßt den Schluß zu, daß hier der initiale Peroxydaseanstieg durch den schnelleren Zerfall der strahlengeschädigten Granulozyten bedingt wird. Nach kurzer Zeit wird die zentrale Regulation des Serumperoxydasespiegels wirksam, der Fermentspiegel fällt auf die Ausgangswerte zurück.

Eine vor allem durch die Strahlenirritation des Knochenmarks bedingte länger andauernde Schädigung der Granulozyten läßt sich aus dem Serumperoxydasespiegel nicht ablesen.

V. Zusammenfassung.

Zum quantitativen Nachweis der Serumperoxydase ist die quantitative Pyrogallolmethode nach BÜNTE und DEMLING besser geeignet als die von uns modifizierte und quantitativ ausgewertete Benzidinmethode (HENNING, DEMLING und HÄRTLEIN), da die Reaktionszeit erheblich kürzer ist und keine oxydatisch wirksamen Substanzen in die Reaktion eingehen. Mit der Pyrogallolmethode wurden erstmals in größerem Umfang quantitative Bestimmungen der Serumperoxydaseaktivität durchgeführt, die zu folgenden Ergebnissen führten:

1. Die Bestimmung der Serumperoxydaseaktivität bei 200 Blutspendern ergab in allen Fällen positive Reaktionen, so daß die Serumperoxydase als ein physiologischer Bestandteil des menschlichen Serums anzusehen ist. Die Normalwerte liegen zwischen 6,91 LPE (Einheiten der Leukozytenperoxydase - Aktivität) und 22,59 LPE (Mittelwert 14,75 LPE, Standardabweichung 3,92 LPE).
2. Klinische Verlaufsbeobachtungen an gesunden und kranken Personen zeigten, daß bei Personen mit normalen Temperaturen und konstanten Leukozytenzahlen der Serumperoxydase Spiegel konstant ist. Fieber und Bluttransfusionen erhöhen die Serumperoxydaseaktivität, der Fermentspiegel kehrt jedoch sehr schnell auf die Ausgangswerte zurück.
3. Der Serumperoxydasegehalt des Knochenmarkblutes ist größer als der des Venenblutes.
4. Es bestehen keine direkten Beziehungen zwischen Granulozytenzahl und Serumperoxydaseaktivität. Bei Störungen der Myelopoese finden sich in den meisten Fällen keine patho-

logischen Peroxydasewerte.

5. Röntgenbestrahlung von Blut in vitro bewirkt regelmäßig eine Erhöhung des Serumperoxydasespiegels. Bei Verlaufsbeobachtungen an bestrahlten Patienten kam es nur in der Mehrzahl der Lungenbestrahlungen zu einem initialen Anstieg der Serumperoxydase.

Die angeführten Untersuchungen zeigen, daß außer gesteigertem Granulozytenzerfall auch vermehrte Granulozytenproduktion eine Erhöhung des Serumperoxydasespiegels bewirkt. Für die Steuerung des Serumfermentgehaltes muß die Existenz eines zentralen regulierenden Zentrums angenommen werden.

VI. Literatur.

AGNER, K.: Verdoperoxydase. - Verlag Königl. Druckerei Norstett, Stockholm 1941.

BACH, A. und R.CHODAT: Ber.dtsch.Chem.Ges. 36, 600 (1903).
Zit. nach BÜNTE.

BACH, A. und S.ZUBKOWA: Über die Fermentzahlen des Blutes.
Biochem.Z. 125, 283 (1921).

BANCROFT, G. und K.A.C.ELLIOT: Biochem.J. 28, 1191 (1934).
Zit. nach THEORELL.

BATTELLI, F. und L.STERN: Über die Peroxydasen der Tiergewebe. -
Biochem.Z. 13, 44 (1908).

BATTELLI, F. und L.STERN: Die Oxydationsfermente. -
Ergebn.Physiol. 12, 96 (1912).

BROCQ - ROUSSEAU: Zit. nach EULER.

BÜNTE, H. und L.DEMLING: Über die quantitative Bestimmung der
Serumperoxydaseaktivität. - Z.f.physiol.Chem. 310, 107 (1958).

CZYLHARZ, E.v. und O.v.FÜRTH: Über tierische Peroxydasen.
Beitr.physiol.Chem.u.Pathol. 10, 358 (1907).

EULER, H.v.: Chemie der Enzyme, Teil 2, 3. Abschnitt.
München 1934.

FISCHEL, R.: Der histochemische Nachweis der Peroxydase.
Wien.klin.Wschr. 23, 1557 (1910).

GLANZMANN, E.: Physiologie der Leukozyten nach den Arbeiten
von 1929 - 1940. - Ergebn.Physiol. 44, 527 (1941).

HENNING, N., L.DEMLING und U.HÄRTLEIN: Die Serumperoxydase,
ein Gradmesser des pathologisch gesteigerten Granulozyten-
zerfalls. - Dtsch.Arch.klin.Med. 196, 233 (1949).

HUSZAK, I.: Über die peroxydatische Wirkung des Nebennierenmarkes. - Biochem. Z. 312, 330 (1942).

JUSCHTSCHENKO, A.: Über die fettspaltenden und oxydierenden Fermente der Schilddrüse und den Einfluß letzterer auf die lipolytischen und oxydierenden Prozesse im Blut. Biochem. Z. 25, 49 (1910).

KLEBS: Zit. nach v. CZYLHARZ und v. FÜRTH.

KOCH, E. und O. MECHOW: Das Verhalten der leukozytären Abbauzellen und der Serumperoxydase nach Hormongabe. Ärztl. Wschr. 48, 1135 (1951).

KREIBICH, C.: Über Oxydasen und Peroxydasen. Wien. klin. Wschr. 23, 1443 (1910).

KURIBAYASHI: Zit. nach GLANZMANN.

KWASNIEWSKI, S. und N. HENNING: Über den Nachweis von Peroxydasen im Serum. - Klin. Wschr. 5, 1472 (1926).

LINossier, M. G.: Soc. Bil. 50, 373 (1898). Zit. nach BATELLI.

MÖLLERSTRÖM, J.: Über die Peroxydasewirkung im Blutplasma bei akuten Infektionen. - Ref. Kongr. Zbl. inn. Med. 112, 561.

NEUMANN, A.: Die eosinophile Granulasubstanz des Blutes. Biochem. Z. 148, 524 (1924).

NEUMANN, A.: Über die Wirkung der Röntgenstrahlen auf die Leukozyten in vitro. - Strahlentherapie 18, 74 (1924).

NIKOLAJEW, K.: Peroxydaseeigenschaften der Leukozyten. Biochem. Z. 194, 244 (1928).

PITZURRA, M. und R. FRASCARELLI: Die leukozytäre Schleimhautdiapedese. - Haematologica (Pavia) 25, 389 (1943).

SATO: Zit. nach GLANZMANN.

SCHOENBEIN, C.F.: Poggendorf Ann. 75, 357 (1848). Zit. nach EULER.

SCHEUNERT, A., W.GRIMMER und P.ANDRYEWSKI: Studien über die Topographie der Peroxydasen im Verdauungsschlauch und über ihren Nachweis. - Biochem.Z. 53, 300 (1913).

STRUVE, H.: Liebigs Annal.Chem. 163, 160 (1872).

SWEDIN, B. und H.THEORELL: Dioxymaleic Acid Oxidase Action of Peroxidases. - Nature 145, 71 (1940).

SZILARD: Wien.Arch.inn.Med. 8, 33. Zit. nach NEUMANN.

THEORELL, H.: Catalases and Peroxidases. In SUMNER-MYRBÄCK: The Enzymes, New York 1951.

WITTE, S.: Morphologische und serologische Studien über Tuberkulinwirkungen an Leukozyten in vitro. Beitr.z.Klin.d.Tuberk. 104, 252 (1950).

Ich möchte an dieser Stelle allen danken, die zum Gelingen der vorliegenden Arbeit beigetragen haben, namentlich

Herrn Professor Dr. med. Norbert H e n n i n g für die liebenswürdige Korrektur der Arbeit und die Übernahme des Referates,

Herrn Privatdozent Dr. med. Siegfried W i t t e für die freundliche Überlassung des Themas und die ständige wertvolle Anleitung und Unterstützung bei den Untersuchungen und der Fertigstellung der Arbeit.

Lebenslauf.

Am 9. September 1933 wurde ich in Königsberg (Preußen) als Sohn des Dr. med. vet. Hugo Strubelt und seiner Ehefrau Erna Strubelt, geb. Doebler, geboren.

Nach dem Besuch der Grundschule trat ich 1944 in die Latina, das humanistische Gymnasium der Franckeschen Stiftungen zu Halle, ein. Von 1946 bis 1947 besuchte ich die Oberschule in Grimmen (Mecklenburg) und ab 1947 die Ernst Moritz Arndt-Oberschule in Bergen auf Rügen. Hier legte ich am 17. Juni 1952 die Reifeprüfung ab.

Im Herbst 1952 ließ ich mich an der Universität Greifswald immatrikulieren, wo ich 1953 den ersten, 1954 den zweiten Teil der Ärztlichen Vorprüfung mit der Note "sehr gut" bestand. 1955/56 studierte ich zwei Semester an der Humboldt-Universität Berlin. Vom Wintersemester 1956/57 an setzte ich mein Studium an der Friedrichs-Alexander-Universität zu Erlangen fort, an der ich am 30. Juni 1958 das Medizinische Staatsexamen mit der Note "sehr gut" bestand. Seit August 1958 bin ich als Medizinalassistent an der Medizinischen Universitätsklinik Erlangen tätig.

Die vorliegende Arbeit entstand in den Jahren 1957 und 1958 an der Medizinischen Universitätsklinik in Erlangen.

